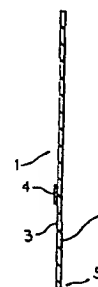


(54) MEASURING METHOD FOR COMPONENT OF LIQUID SPECIMEN, AND TEST PIECE AND SANITARY TOOL THEREFOR

(11) 5-249107 (A) (43) 28.9.1993 (19) JP
 (21) Appl. No. 4-351476 (22) 18.11.1992 (33) JP (31) 91u.102753 (32) 18.11.1991
 (71) DAIKI K.K. (72) HIROSHI ITO
 (51) Int. Cl⁵. G01N33/52, G01N31/22

PURPOSE: To obtain a method, test piece, and sanitary tool for measuring the component of a liquid specimen which are easily handled and from which a uniform color reaction can be obtained.

CONSTITUTION: After part of the title test piece for measurement is dipped in a liquid specimen except its reagent retaining section for measurement, the liquid is moved to the reagent retaining section so that the liquid can be brought into contact with a reagent retained in the reagent retaining section. Then the presence/absence of a color reaction is discriminated.

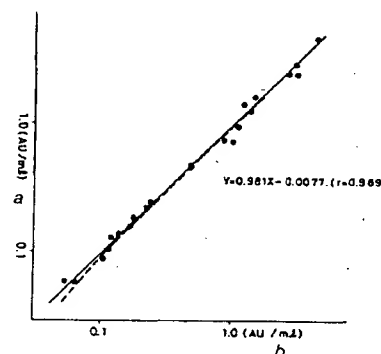


(54) PIVKA-II MEASURING REAGENT

(11) 5-249108 (A) (43) 28.9.1993 (19) JP
 (21) Appl. No. 3-70318 (22) 12.3.1991
 (71) EISAI CO LTD (72) TORU NARAKI(2)
 (51) Int. Cl⁵. G01N33/53, C12Q1/56, G01N33/577//A61K39/395, A61K39/44

PURPOSE: To obtain an immunological measuring method by which PIVKA-II contained in a biological sample can be measured even when the biological sample is a blood serum sample.

CONSTITUTION: The title reagent is used for measuring PIVKA-II by using an anti-human prothrombin polyclonal or monoclonal antibody containing no such an antibody that reacts to human-thrombin as a second antibody by an immunological measuring method utilizing a two-antibody sandwich method. As shown in the diagram indicating the correlation between the blood plasma of a patient who is positive in PIVKA-II and the blood serum sample of the patient, PIVKA-II can be measured accurately even from a blood serum sample on which accurate PIVKA-II measurement has been difficult.



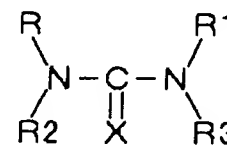
a: blood plasma, b: blood serum

(54) METHOD AND DEVICE FOR DETECTING PROTEIN HAVING SUBUNIT STRUCTURE

(11) 5-249109 (A) (43) 28.9.1993 (19) JP
 (21) Appl. No. 3-358113 (22) 27.12.1991 (33) JP (31) 91p.349425 (32) 9.12.1991
 (71) EIKEN CHEM CO LTD (72) NOBUYUKI SAITO
 (51) Int. Cl⁵. G01N33/53, G01N33/543

PURPOSE: To detect protein having a subunit structure by making a porous carrier to contain a protein denaturant.

CONSTITUTION: An antigen to be inspected is detected by forming a complex of a granulated standard antibody, the antigen to be inspected, and immobilized antibody by making the standard antibody and the antigen to be inspected in a sample to react to each other in a porous carrier in which the antibody is immobilized. Since the antigen to be inspected is protein having a subunit structure constituted of a plurality of subunits having the same antigenic determinant, a porous carrier containing a protein denaturant is used. Such a protein denaturant that can dissociate subunits and the compound expressed by, the general expression can effectively dissociate the subunit in a concentration range in which the antigen-antibody reaction is not interrupted can be used. In the expression, R₁, R₂, and R₃ respectively represent alkyl bases of H or C=1 to 5 and X represents urea, tiourea, or derivative of urea or tiourea. When urea is used for the compound expressed by the general expression, it is preferable to use the urea at a rate of about 0.6mg to 12mg per 150μl of sample.



(19)日本国特許庁(J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平5-249108

(43)公開日 平成5年(1993)9月28日

(51)Int.Cl. ⁵	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
G 0 1 N 33/53	D	8310-2 J		
C 1 2 Q 1/56		6807-4 B		
G 0 1 N 33/577	B	9015-2 J		
// A 6 1 K 39/395	D	8413-4 C		
39/44		8413-4 C		

審査請求 未請求 請求項の数5(全 7 頁)

(21)出願番号 特願平3-70318

(22)出願日 平成3年(1991)3月12日

(71)出願人 000000217

エーザイ株式会社

東京都文京区小石川4丁目6番10号

(72)発明者 檜木 徹

千葉県我孫子市つくし野3-12-401

(72)発明者 渡辺 啓祐

茨城県つくば市二の宮1-4-12-201

(72)発明者 小出 醇

茨城県つくば市大字小白碓672-223

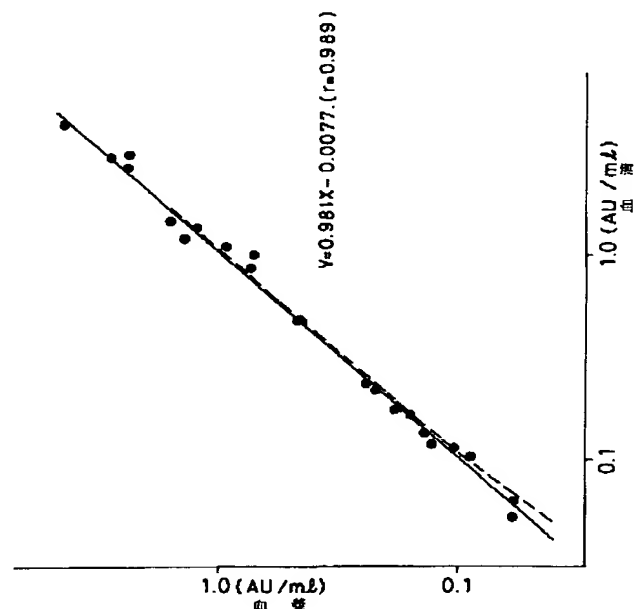
(54)【発明の名称】 P I V K A - I I の測定試薬

(57)【要約】

【目的】 生物学的試料中のP I V K A - I I の測定において血清試料でも測定できる免疫学的測定法を提供することにある。

【構成】 二抗体サンドイッチ法を利用する免疫学的測定法において、第二抗体としてヒトトロニンと反応する抗体を含まない抗ヒトプロトンビンポリクローナル抗体または抗ヒトプロトンビンモノクローナル抗体を用いるP I V K A - I I の測定方法及び測定試薬。

【効果】 図に、本発明の方法によるP I V K A - I I 陽性患者の血漿と血清試料の相関を示す如く、これまで正確な測定が難しかった血清試料についてもP I V K A - I I の測定を可能にする。



1

【特許請求の範囲】

【請求項1】 生物学的試料中のPIVKA-IIを二抗体サンドイッチ法を利用する免疫学的測定法によって測定するに当り、第二抗体としてヒトプロトロンビンと反応する抗体を含まない抗ヒトプロトロンビン抗体を使用することを特徴とするPIVKA-IIの測定試薬。

【請求項2】 ヒトプロトロンビンと反応しない抗ヒトプロトロンビン抗体がヒト以外の動物にヒトプロトロンビンを免疫して得た抗体より抗ヒトプロトロンビン抗体を除去して製造される抗体であることを特徴とする請求項1記載のPIVKA-IIの測定試薬。

【請求項3】 ヒトプロトロンビンと反応しない抗ヒトプロトロンビン抗体がマウスモノクローナル抗体であることを特徴とする請求項1記載のPIVKA-IIの測定試薬。

【請求項4】 生物学的試料が血漿または血清であることを特徴とする請求項1記載のPIVKA-IIの測定試薬。

【請求項5】 生物学的試料中のPIVKA-IIを二抗体サンドイッチ法を利用する免疫学的測定法によって測定するに当り、第二抗体としてヒトプロトロンビンと反応する抗体を含まない抗ヒトプロトロンビン抗体を使用することを特徴とするPIVKA-IIの測定方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明はPIVKA-IIの測定方法および測定試薬に関する。さらに詳しくは、PIVKA-IIを二抗体サンドイッチ法を利用する免疫学的測定法によって測定する測定方法および測定試薬に関する。

【0002】

【従来の技術】PIVKA-IIはビタミンK依存性血漿蛋白質の一つであるプロトロンビンの前駆物質であって、アミノ末端領域にある10個のグルタミン酸残基についての γ -カルボキシル化の程度が不完全なものを言う。当該カルボキシル化の程度が完全なものを正常プロトロンビンと言う。従って、PIVKA-IIとは正常プロトロンビンの γ -カルボキシグルタミン酸残基についての脱カルボキシル化体であるということもでき、PIVKA-IIという名称以外に異常プロトロンビン (Abnormal prothrombin) と呼ばれることもある。10個のグルタミン酸残基中いくつか γ -カルボキシル化を受けるかにより数種類のPIVKA-IIが混在した状態で存在している。本発明は主として生物学的試料中のPIVKA-IIの測定を目的としているので、本発明におけるPIVKA-IIとは、特にことわらない限り、数種類のPIVKA-IIの混在状態を言う。10個のグルタミン酸残基についてのカルボキシル化の程度が完全なものを正常プロトロンビンと言う。

【0003】PIVKA-II測定の臨床的な有用性については、ビタミンKの不足状態あるいは抑制状態におい

2

て当該 γ -カルボキシル化が不完全となり、その結果PIVKA-IIが血液中出现するので、ビタミンKの不足状態あるいは抑制状態のマーカーとしてその測定は臨床重要である。PIVKA-IIとはProtein induced by vitamin K absence-IIの略称であり、これは上記生理的観点に基づいて命名されたものである。また最近では、肝細胞癌に伴って血液中にPIVKA-IIが出現することが見いだされ、従来肝細胞癌の良マーカーとされている α -フェトプロテインが陰性の肝細胞癌患者においてもPIVKA-IIが高濃度中出现することがあることにより、 α -フェトプロテインと同等の臨床的な有用性が認められている。PIVKA-IIとビタミンKおよび肝細胞癌との関連について参考のために下記文献1) から3) を列挙する。

1) Motohara K. Kuroki Y. Kan H. Endo F. Matsuda I.

Detection of vitamin K deficiency by use of an enzyme-linked immunosorbent assay for circulating abnormal prothrombin.

Pediatric Research. 1985; 19: 354-7

2) Okuda H. Obata H. Nakanishi T. Furukawa R. Hashimoto E.

Production of abnormal prothrombin (des- γ -carboxy prothrombin) by hepatocellular carcinoma.

Journal Hepatology. 1987; 4: 357-63

3) Hattori N. Ohmizo R. Unoura M. Tanaka N. Kobayashi K. Abnormal prothrombin measurements in hepatocellular carcinoma Journal of Tumor marker oncology. 1988; 3: 207-16

【0004】PIVKA-IIの測定方法としては、ポリクローナルな抗PIVKA-II抗体を使用した競合ラジオイムノアッセイ法 (Blanchard R. et al. Acquired vitamin K-dependent carboxylation deficiency in liver disease. The New England Journal of Medicine. 1981; 305: 242-

8)、あるいは正常プロトロンビンを吸収後、残存するPIVKA-IIのトロンビン活性を測定する方法 (So

ulier J. et al. A new method to assay des-γ-carboxy prothrombin. Gastroenterology. 1986; 91: 1258-62) などが報告されているが、いずれも材料の調製が繁雑であったり、測定系が複雑であったりして多数の臨床検体を扱う臨床検査の場においては実用的ではない。これらの方法に対して、抗PIVKA-IIモノクローナル抗体を使用した特異的なPIVKA-II測定方法(特開昭60-60557号)は非常に簡便であり、しかも正確に多数の検体が測定できるという特徴を持っており、現在その方法を使用した測定試薬が唯一のPIVKA-II測定診断薬として広く利用されている。

【0005】肝細胞癌の診断および経過観察にα-フェトプロテインの測定と共にPIVKA-IIの測定が行なわれているが、α-フェトプロテインの測定が検体として血清でも血漿でも使用できるのに対し、上記の特開昭60-60557号公報に基づくPIVKA-IIの測定法は、血清では正確な測定はできず、血漿を検体試料として使用しなければならないという大きな欠点を有している(服部 信、臨床と研究、65巻3号、257頁左欄に「血清検体の中には異常に高値を示すものがみられ、安定した定量値が得られないことがわかった。」と記載されている。)。また、血漿検体においてさえ、その保存期間中に凍結融解を頻回おこなったり、高温に保存したりした場合には血液凝固反応が進行し血清に近い状態となり、測定値の信頼性に不安をいだかせる場合がある。このことは診断を必要とする患者から血清と血漿の2種類の採血をしなければならず、患者の負担はもちろんのこと、測定する側にとっても血清試料でも信頼性のあるPIVKA-IIの測定できる試薬の開発が望まれている。また血漿試料で正確なPIVKA-IIの測定が可能であるのに、血清試料ではなぜ安定した測定値が得られないか、原因は不明でありその解決策はいまだ見出されていない。

【0006】

【発明が解決しようとする課題】かかる実情にかんがみ本発明者らは、血漿検体はもちろんのこと、血液凝固反応が進行した検体、とりわけ血清検体でもPIVKA-IIが測定できる試薬を開発することを目的とする。

【0007】

【課題を解決するための手段】本発明者らはPIVKA-IIを二抗体サンドイッチ法を利用する免疫学的測定法において、第二抗体として使用する抗ヒトプロトロンビン抗体を通常の方法によりヒトプロトロンビンを動物に免疫して作成した場合には、たとえヒトプロトロンビンアフィニティカラムを用いて抗体を精製しても(特開昭60-60557号)その抗ヒトプロトロンビン抗体の中にヒトロンビンと交差反応を示す抗体が出現することを見出した。さらにその抗体の特性を鋭意研究した

結果、ヒトロンビンと交差反応を示す抗体が血清検体のPIVKA-II測定系に悪い影響を及ぼすことを初めて見出した。すなわちPIVKA-IIの免疫測定系における第二抗体として使用する抗ヒトプロトロンビン抗体がヒトロンビンと反応しない抗体を使用すれば血漿検体はもちろんのこと血清検体でもPIVKA-IIが正確に測定できることを初めて見出し本発明を完成するに至った。

【0008】すなわち本発明は酸素免疫測定法、ラジオイムノアッセイ法あるいはその他の測定法において二抗体サンドイッチ法を原理とするPIVKA-II測定試薬の抗体には、第一抗体に抗PIVKA-IIモノクローナル抗体を使用し、第二抗体にはPIVKA-IIとプロトロンビンの共通抗原に対する抗体(抗プロトロンビン抗体と呼ぶ)を使用するが、この時、第二抗体として使用する抗体がモノクローナル抗体、ポリクローナル抗体にかかわらずロンビンと交差反応しない抗体を使用することにより、血漿検体はもちろんのこと血清検体でもPIVKA-IIが正確に測定できる完成された試薬を提供することにある。このようにして製造した試薬はロンビンと反応しないので、血清中に多量に存在するロンビンの影響を受けずにPIVKA-IIが測定できる。一方、ロンビンと交差反応する抗プロトロンビン抗体を使用した場合には、血清中のPIVKA-II以外にロンビンとも反応して測定値を上昇させ、正確な測定が不可能である。

【0009】以下に本発明を詳細に説明する。本発明に係わるロンビンと反応しない抗プロトロンビン抗体は例えば次のように製造される。まず、新鮮ヒト血漿よりShapiro等(Shapiro S. et al. The purification of human prothrombin. Thromb. Diath. Haemorph., 1966; 16: 469-90)の方法により精製ヒトプロトロンビンを得る。次にこのヒトプロトロンビンでウサギを免疫し、採血して抗血清を得る。抗血清に硫酸アンモニウムを加えて塩析し、透析後、DE-52 Celluloseでイオン交換する。これを、ヒトプロトロンビンアフィニティカラムにかけ、4M塩酸グアニジンで溶出して抗ヒトプロトロンビンウサギIgG抗体を得る。透析して塩酸グアニジンを除去後ロンビンアフィニティカラムにかけて、素通り分画を採取し、ロンビンと反応しない抗プロトロンビン抗体とする。また上記のポリクローナル抗体の他に、精製ヒトプロトロンビンをマウスに免疫してその脾臓細胞を採取し、Koehler G. 等の方法(Koehler G. Milstein C. Deviation of specific antibody-producing culture and tumor lines by cell fusion. Eur. J. Immunol. 1976; 6: 51

1-9)によりミエローマ細胞株P3U1と細胞融合し、限界希釈法により3回クローニングをおこない、トロロンビンと反応せずにPIVKA-IIおよび正常プロトロンビンと反応する抗プロトロンビン抗体産生セルラインとして確立される細胞が分泌するモノクローナル抗体をトロロンビンと反応しない抗プロトロンビン抗体として使用することもできる。

【0010】本発明に係わる抗PIVKA-IIモノクローナル抗体は例えば公開特許(特開昭60-60557)に述べられているように、次のように製造される。まず、ワーファリン服用者血漿よりBaSO₄、BaCO₃処理してヒトプロトロンビンを吸着除去し、次にDE-52 Celluloseによるイオン交換をおこない、最後にPIVKA-IIおよび正常プロトロンビンと反応する抗プロトロンビン抗体を用いたアフィニティークラムに吸着せしめ、4M塩酸グアニジンで溶出し、透析し、濃縮して精製PIVKA-IIを得る。次にこの精製PIVKA-IIをマウスに免疫してその脾臓細胞を採取し、前記したKohler G.等の方法によりミエローマ細胞株P3U1と細胞融合し、限界希釈法により3回クローニングをおこない、正常プロトロンビンとは反応せずにPIVKA-IIとのみ反応する抗体産生セルラインとして確立される細胞が分泌するモノクローナル抗体を抗PIVKA-IIモノクローナル抗体として使用することができる。

【0011】次に本発明における二抗体サンドイッチ法を利用する測定法は例えば次のように実施される。なお、ここでは酵素免疫測定法の場合を示すが、ラジオイムノアッセイ法あるいはその他の方法においても本発明が使用できることは言うまでもない。本発明測定試薬の具体的な態様を示せば次の如くなる。すなわち、本発明測定試薬はヒトプロトロンビンと反応する抗体を含まない抗ヒトプロトロンビン抗体を必須の構成成分とし、モノクローナル抗PIVKA-II抗体(単独または固相化したもの)、標準抗原、酵素および基質よりなる群より任意に選択したものを組合わせたもののセットである。ここにおいて、セット中に固相が含まれる場合に当該固相がモノクローナル抗PIVKA-II抗体によってコートされた状態で提供されること、あるいはセット中に標準用抗ヒトプロトロンビン抗体と酵素とが含まれる場合に、両者がコンジュゲートした状態で提供されることは自由であり、これらも同様に本発明測定試薬の態様に含まれる。また測定の実施の便益のために適当なる抗原希釈液、反応希釈液、基質溶解液、反応停止液等がセット中に添付されることも自由であり、これらは本発明を限定するものではない。測定は抗PIVKA-IIモノクローナル抗体コート固相体に標準抗原または被検生物学的試料(血液、血漿または血清)を加えてインキュベートする。固相体を洗浄後、酵素標識抗プロトロンビン抗体(トロロンビンと反応しない)を加えて再びインキュベ

トし、洗浄し、最後に基質を加えてインキュベート後、基質の分解量を分光光度計を用いて測定する。後記実施例によって示されるごとく、本発明測定試薬によってはじめて血清検体でのPIVKA-II測定が可能となる。

【0012】

【発明の効果】本発明は従来正確な測定が不可能であった血清におけるPIVKA-II測定を可能にし、肝細胞癌の診断および経過観察に有効なPIVKA-IIの測定をα-フェトプロテインの測定と同じ血清で測定できるようにし、血清と血漿を別々に採血するという患者の負担を除くことができる。

【0013】

【実施例】以下に記載する実施例をもって本発明の効果をも更に具体的に説明する。

実施例1.

トロロンビンと反応しない抗プロトロンビン抗体の作成
新鮮ヒト血漿1リットルに1M BaCl₂を80ml添加し、1時間攪拌した後、遠心にてバリウム沈澱を回収する。0.2M EDTA 200mlを加えて2時間攪拌後、硫酸アンモニウムにて25~65%飽和分画を採取する。0.1Mリン酸緩衝液で透析後、DEAE-Sephacelにて0M~0.6M NaCl分画を行なう。プロトロンビン画分を集め、透析後、Heparin-SepharoseおよびBlue-Sepharoseに通す。Ultrogel AcA44にてゲル濾過をし、精製された正常ヒトプロトロンビンを得た。その最終回収率は、30~40%であった。ここに得られた正常ヒトプロトロンビンでウサギを免疫し、その抗血清に35%硫酸アンモニウムを加えて沈澱を得た後、透析し、DEAE-Celluloseカラムにかけ、0.017Mリン酸緩衝液でイオン交換クロマトグラフィーを行なってIgG分画を得る。BrCNで活性化したSepharoseに精製した正常ヒトプロトロンビンを結合し、アフィニティークラムとする。精製したIgG分画をアフィニティークラムに通し、結合した抗体を4M塩酸グアニジンで溶出して抗ヒトプロトロンビンウサギIgG抗体を得る。透析して塩酸グアニジンを除去した後、トロロンビンアフィニティークラムに通して、素通り分画を採取する。このようにして精製した抗体を、トロロンビンと反応しない抗プロトロンビン抗体とする。

【0014】実施例2.

酵素標識抗体の作成

トロロンビンと反応しない抗プロトロンビン精製抗体5mgを0.1M酢酸緩衝液pH4.2で透析した後、ブタ胃・ペプシン0.2mgを加え37℃で24時間インキュベートした。pHを7.0にあわせた後、Ultrogel AcA44カラムにかけて0.1M酢酸緩衝液pH7.0でゲル濾過を行ない、F(ab')₂を得る。F(ab')₂を0.1Mリン酸緩衝液pH6.0に透析した後、

0. 1 Mメルカプトエチルアミン50 μ l を添加し37℃で90分間インキュベートした。0. 1 M磷酸緩衝液pH6. 0 (5mM, EDTA) で平衡化したSephadex G25カラムに通して透析を行ない、Fab-SHを得た。一方、酵素として西洋ワサビ・ペルオキシダーゼ (HRPと略す) 2mgを0. 1 M磷酸緩衝液pH7. 0に溶解し、N-サクシニミジル m-マレイミドベンゾエート0. 7mg (N, N-ジメチルホルムアミドに溶解する) を添加し30℃で60分間インキュベートした。0. 1 M磷酸緩衝液pH6. 0で平衡化したSephadex G25カラムに通して透析を行ない、マレイミド化HRPを得た。Fab-SHとマレイミド化HRPとを混合して4℃で一週間インキュベートし、0. 1 M磷酸緩衝液pH6. 5で平衡化したUltrogel ACA44カラムにかけてゲル濾過を行ない酵素標識抗体を得た。

【0015】実施例3.

測定方法

PIVKA-IIモノクローナル抗体は特開昭60-60557号公報に記載されている常法により作成する。この抗体をエンザイムイムノアッセイ用マルチプレートへの固相化する方法は同公報記載の常法により行なう。抗PIVKA-IIモノクローナル抗体コート固相に1ウエル当り被検検体100 μ l を注入し、4℃で一週間インキュベートする。0. 05Mトリス-塩酸緩衝液pH7. 5 (0. 05% Tween 20) で三回洗浄後、酵素標識抗体100 μ l を加えて4℃で1時間インキュベートする。0. 05Mトリス-塩酸緩衝液pH7. 5 (0. 05% Tween 20) で三回洗浄後、ABTS溶液100 μ l を加えて60分間静置し、2mMアジ化ナトリウム100 μ l を加えて反応を停止して分光光度計により波長405nmの吸光度を測定する。

【0016】実施例4.

PIVKA-II陰性健常人血漿および血清試料の測定
PIVKA-II陰性健常人40人より同時に血漿試料および血清試料を採取し、それぞれについて実施例3記載の方法に従いPIVKA-IIの測定を行なった。結果を図1および図2に示す。図1は血漿試料についてであり、ヒトトロニンと反応する抗体を含む抗ヒトプロトロンビン抗体を使用する方法(A)とヒトトロニンと反応する抗体を含まない抗ヒトプロトロンビン抗体を使用する本発明の方法(B)の結果を示す。この測定試薬の検出限界が0. 0625AU/mlであるので方法A, Bいずれの方法によっても健常人血漿試料の場合は検出限界以下であることを示す。すなわち、健常人はPIVKA-IIは検出されず測定値の高い人はいないという正確な値を示す。一方図2に示す如く、血清試料の場合は方法Bでは血漿試料と同じく検出限界以下であるが方法Aで同じ健常人でありながら0. 0625~0. 13AU/mlまで分布し高い測定値を示す場合が多く安定した値が

得られない。このように本発明の方法Bは血漿試料はもちろんのこと血清試料でも測定を可能とし、方法Aでは血清試料についてはこれまで言われているように正確な測定が不可能である。

【0017】実施例5.

PIVKA-II陽性肝細胞癌患者血清および血漿試料の測定

PIVKA-II陽性肝細胞癌患者25人より同時に血清検体および血漿検体を採取し、それぞれについて測定方法に従って測定を行なった。同時に採取した血清検体と血漿検体の相関性をプロットした結果を図3および図4に示す。図3はヒトトロニンと反応する抗体を含まない抗プロトロンビン抗体を使用した試薬による血清検体と血漿検体の相関性をプロットした結果である。相関係数は0. 989であり、傾きは0. 981であり(図3中実線を傾き1の直線であり、血清検体と血漿検体をプロットした曲線は点線で示す)、血清検体でも正確な測定が可能であった。一方、図4はヒトトロニンと反応する抗体を含む抗プロトロンビン抗体を使用した結果であるが、相関係数は0. 991と良好であったが、傾きが0. 949となり、特に低濃度で血清における定量値が高くなり、トロニンの非特異反応をPIVKA-IIの特異反応と同時に測定していることを意味する(図4中実線を傾き1の直線であり、血清検体と血漿検体をプロットした曲線は点線で示す)。

【0018】このように、トロニンと反応する抗プロトロンビン抗体を使用した場合には、血清検体での測定は不可能であるのに対して、トロニンと反応しない抗プロトロンビン抗体を使用することによって血漿と同じように血清検体も使用できる。

【図面の簡単な説明】

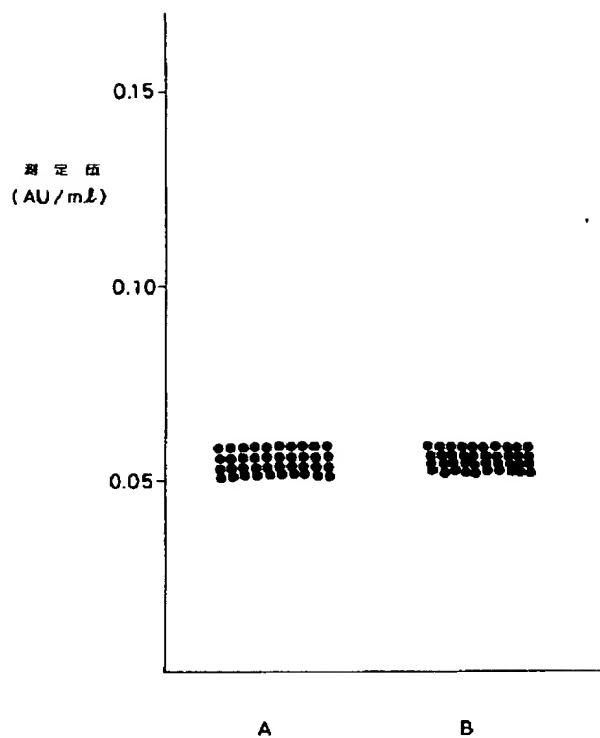
【図1】第二抗体としてヒトトロニンと反応する抗体を含む抗ヒトプロトロンビン抗体を使用する方法(A)とヒトトロニンと反応する抗体を含まない抗ヒトプロトロンビン抗体を使用する方法(B)によるPIVKA-II陰性健常人40人の血漿中PIVKA-IIの測定値。

【図2】第二抗体としてヒトトロニンと反応する抗体を含む抗ヒトプロトロンビン抗体を使用する方法(A)とヒトトロニンと反応する抗体を含まない抗ヒトプロトロンビン抗体を使用する方法(B)によるPIVKA-II陰性健常人40人の血清中PIVKA-IIの測定値。

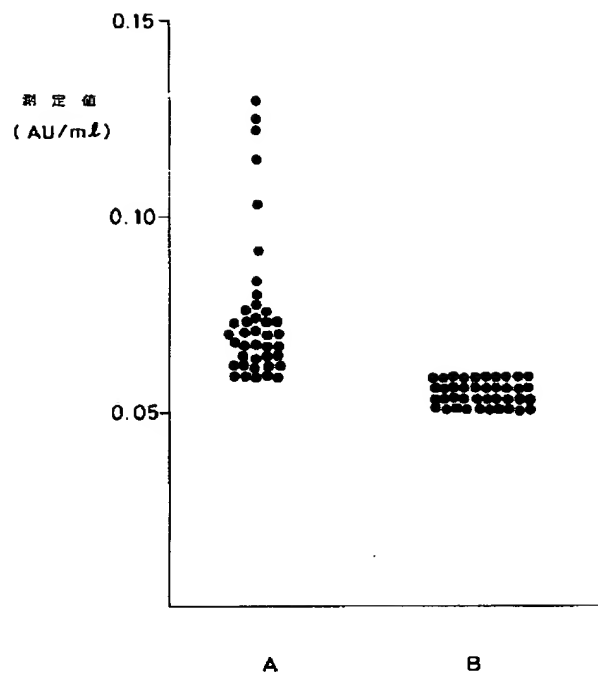
【図3】抗トロニン抗体を含まない抗プロトロンビン抗体を使用する方法によるPIVKA-II陽性患者の血漿検体と血清検体の相関。

【図4】抗トロニン抗体を含む抗プロトロンビン抗体を使用する方法による、PIVKA-II陽性患者の血漿検体と血清検体の相関。

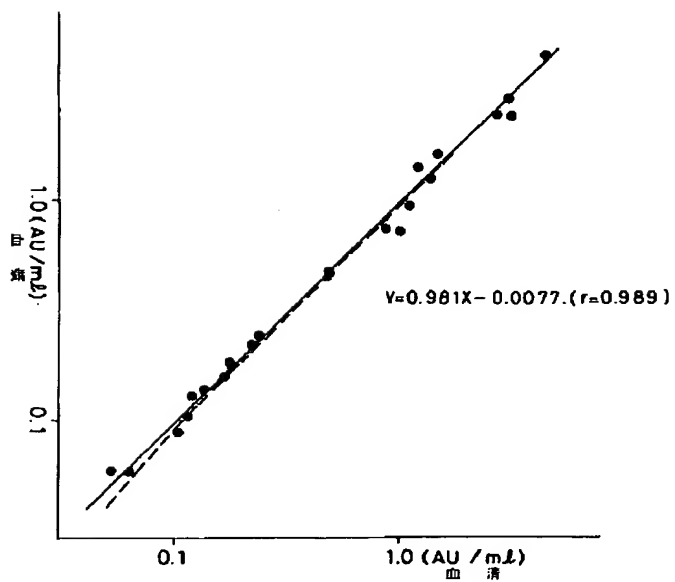
【図1】



【図2】



【図3】



【図4】

